

BIORREMEDIACIÓN DE RESIDUOS INDUSTRIALES (ACEITES Y GRASAS) MEDIANTE UN CONTACTOR BIOLÓGICO ROTATIVO CON BIOPELÍCULAS FORMADAS POR CEPAS NATIVAS DE *PLANOCOCCUS SP.*

Jani Pacheco Aranibar.¹, Luis Lizarraga Vargas.¹, Julio Caceda Quiroz²,
Julio César Bernabé Ortiz.^{1,3,4}

- (1) Instituto de Biotecnología del ADN Uchumayo. Arequipa
- (2) Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna
- (3) Universidad Católica de Santa María. Arequipa
- (4) Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa

RESUMEN: Los aceites y grasas presente en los residuos industriales provenientes de las industrias Restaurantes y domicilios, crean muchos problemas medioambientales, incluyendo malos olores, la obstrucción de las líneas de alcantarillado y puede interferir con el buen funcionamiento de las obras de tratamiento de aguas residuales. Remoción de los aceites y grasas de las aguas residuales es, pues, de importancia crítica para asegurar que las aguas residuales se gestionen de una forma eficiente.

En el presente estudio, evaluamos la degradación de aceites y grasas usando un Contactor Biológico Rotativo (BCR), en donde los biodiscos son cubiertos con biopelículas formadas por *Planococcus sp.*, una bacteria aislada de suelos desérticos de la Joya Arequipa y registrada en GenBank como EF543862. Recolectamos el aceite proveniente de una empresa del parque industrial de Arequipa, y en una dilución al 20% fueron colocados en un Prototipo de Contactor Biológico Rotatorio (CBR), que presentaba discos con biopelículas formadas por *Planococcus sp* y en otro compartimento que contenía un Consorcio de *Planococcus sp.* y *Pseudomonas fluorescens*.

Para evaluar la Biorremediación del aceite industrial, se monitorearon la concentración de Lípidos, DBO y DQO. Y encontramos que las tres variables se reducen durante el tiempo de monitoreo, alcanzando una degradación de 98%, 99.13% y 96.4% para Lípidos, DQO y DBO respectivamente, concluyendo que la cepa de *Planococcus sp.* Contenidos en el CBR es efectivo y elimina los aceites y grasas presentes en un agua residual. La degradación de Aceites y grasas fue confirmada por HPLC. Esta nueva tecnología debe ser instalada en las empresas para la eliminación primaria de sus residuos de aceites y grasas.

El Presente trabajo es Financiado por Concytec - Resolución de Presidencia N°348-2010-CONCYTEC-P

Palabras Clave: *Planococcus sp.*, Transferencia tecnológicas, Biorremediación, Biopelículas, DBO, DQO.

ABSTRACT: Oils and fats present in industrial waste, food or liquids, clogging of sewer lines and can interfere with the proper functioning of wastewater treatment works. The elimination of oils and the properties of wastewater is therefore of critical importance to ensure that wastewater is managed in an efficient manner.

In the present study, it evaluates the degradation of oils and fats using a Rotating Biological Contactor (BCR), where the biodisc are coated with biofilms formed by *Planococcus sp.*, An isolated bacterium from desert soils of the Joya-Arequipa and registered in GenBank as EF543862. Our collect the oil coming from a company of the industrial park of Arequipa, and in a dilution to 20% were placed in a prototype of Rotary Biological Contactor (CBR) , which presented discs with biofilms formed by *Planococcus sp* and in another compartment containing a Consortium of *Planococcus sp.* and *Pseudomonas fluorescens*.

To evaluate the bioremediation of industrial oil, monitor the concentration of Lipids, BOD and COD. The variables were reduced during the monitoring time, reaching a degradation of 98%, 99.13% and 96.4% for Lipids, COD and BOD respectively, concluding that the *Planococcus sp.* Contents in the CBR is effective and eliminates oils and fats present in wastewater. The degradation of oils and fats was confirmed by HPLC. This new technology must be installed in companies for the primary elimination of waste and grease.

The Present of the work is Funded by Concytec - Presidential Resolution No. 348-2010-CONCYTEC-P

Keywords: *Planococcus sp.*, Technology transfer, Bioremediation, Biofilms, DBO, DQO.

INTRODUCCIÓN

Los lípidos (grasas y aceites) forman una parte importante de los residuos domésticos e industriales, por lo tanto, contribuyen con la contaminación del medio ambiente. Las fuentes incluyen las aguas residuales de refinerías de aceite comestible, desechos de la industria de hidrocarburos, parque automotor, mataderos y productos

lácteos (Saifudin *et al.*, 2006). La alta concentración de estos compuestos en aguas residuales causa serios problemas en los procesos de tratamiento de estas aguas formando una capa sobre la superficie y disminuyendo la tasa de transferencia de oxígeno en el proceso aeróbico (Becker *et al.*, 1999).

En las sociedades modernas la gestión adecuada de las aguas residuales es una necesidad, no un opción. Las aguas residuales se clasifican generalmente con características compatibles con las autoridades municipales las aguas residuales se descargan a menudo a los colectores de desagüe e incluso son eliminadas al suelo.

Correspondencia:

Dr. Julio C Bernabé Ortiz

E-mail: jcbernabe@hotmail.com

Muchas aguas residuales industriales exige un tratamiento previo para eliminar las sustancias no compatibles antes de su descarga en los desagües. Los lípidos tienen una importante contribución a la parte orgánica de las aguas residuales. Su cantidad en las aguas residuales es aproximadamente el 30-40% de la demanda química de oxígeno total. (Chipasa y Medrzycka, 2006).

En la Ciudad de Arequipa, muchas empresas industriales producen aceites y grasas residuales, las del parque automotriz al hacer el cambio de aceite de sus motores, las maquinarias de las empresas, etc. Este aceite es almacenado en cilindros, pero mucho es eliminado al suelo; en el caso del aceite que es almacenado en cilindros, este residuo es vendido a 50 nuevos soles el cilindro para los hornos de la ladrillera informal. El uso de los aceites residuales en los hornos de ladrilleras informales, en el caso de las ladrilleras ubicadas en Yarabamba, son quemados produciendo contaminantes y dispersando sus sólidos al medio ambiente que en consecuencia afecta a muchas especies, plantas, animales, así como humanos.

La biodegradación se convierte en una alternativa, puesto que este proceso que naturalmente se lleva a cabo por microorganismos, tiene la ventaja de eliminar los aceites, grasas y otras sustancias en compuestos más simples y menos tóxicos, y si la biorremediación es completa los contaminantes son convertidos en CO₂, agua que no afectan al medio ambiente... y pueden ser vertidos a los desagües o ríos.

Utilizamos el aceite residual de una empresa constructora del parque industrial de Arequipa, como materia prima para la biodegradación, utilizando Contactores Biológicos Rotatorios. Se mide la concentración de Lípidos Totales, Demanda Bioquímica de oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Grasas y Aceites en Aguas residuales

La denominación de "**grasas y aceites**" se refieren únicamente al estado físico sólido o líquido de este tipo de lípidos y no tienen ninguna relación con cualquier otra propiedad; la estructura y la química no varía. Las grasas y aceites son ésteres formados por la condensación (unión) de ácidos grasos con glicerol. En general, las grasas y aceites comestibles o alimenticias están formadas básicamente por triacilglicéridos (TAG), que consisten en mono, di o triésteres; ya que el glicerol es un trialcohol que puede dar origen a los compuestos mencionados. En la molécula del triacilglicerol se crea un centro quirálico si los dos grupos OH primarios del glicerol están esterificados con dos ácidos grasos diferentes. El número de TAG posibles se deduce del número "n" de ácidos grasos existentes en la grasa (Alais y Linden, 1990).

Las grasas animales y los aceites vegetales son cuantitativamente el tercer componente de los alimentos. Los tipos de grasas y aceites más frecuentemente presentes en los sistemas de alcantarillado corresponden a aceites de tipo vegetal y grasas de tipo animal. Las grasas y aceites son de los compuestos orgánicos más estables y no son fácilmente biodegradables; sin embargo, los ácidos minerales los atacan, dando como resultado la formación de ácidos grasos y glicerina. En presencia de álcalis, tales como el hidróxido sódico, la glicerina se libera y se forman sales alcalinas de los ácidos grasos (Bailey y Ollis, 1986). También desembocan al alcantarillado, el queroseno y los aceites lubricantes y los procedentes de materiales bituminosos derivados del petróleo, utilizados en la construcción de carreteras.

En su mayoría flotan sobre el agua residual, aunque una parte de ellos es arrastrada con el fango por los sólidos sedimentables. Incluso en mayor proporción que las grasas, aceites y jabones, los aceites minerales tienden a recubrir las superficies. Las partículas interfieren con la actividad biológica y causan problemas de mantenimiento (Metcalf y Eddy, 1985, Linda U. Obi, 2016).

Demanda Bioquímica de Oxígeno, llamado también DBO,

Con la importancia creciente del control eficaz de la contaminación, especial énfasis fue puesto en la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO). La Agencia de Protección Ambiental (EPA) utiliza los niveles de DBO para medir la fuerza de efluentes y establecer los lineamientos de efluentes como lo exige la Ley de Control de la polución del agua.

DBO es una medida del contenido de sustancias biológicamente degradables en aguas residuales. Las sustancias son degradadas por microorganismos en presencia de (y con el consumo de) oxígeno. La demanda de oxígeno se mide en términos del oxígeno consumido por los microorganismos durante un período de 5 días (DBO 5) o siete días (DBO7).

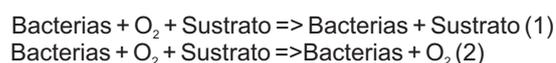
La DBO es uno de los parámetros de mayor importancia en el estudio y caracterización de las aguas no potables. La determinación de DBO además de indicarnos la presencia y biodegradabilidad del material orgánico presente, es una forma de estimar la cantidad de oxígeno que se requiere para estabilizar el carbono orgánico y de saber con qué rapidez este material va a ser metabolizado por las bacterias que normalmente se encuentran presentes en las aguas residuales.

La importancia de este parámetro requiere de ciertos cuidados y atención en la técnica analítica, ya que por ser un proceso biológico el manejo y tratamiento de la muestra es delicado.

El método estándar consiste en tomar un pequeño volumen de la muestra a analizar. Este pequeño volumen debe ser representativo del total de la muestra, por lo que ésta deberá estar completamente homogenizada.

Un volumen que es típicamente de unos cuantos mililitros (1-50 ml), se mezcla con un agua de dilución previamente preparada y que contiene los nutrientes requeridos para el desarrollo del medio microbiano que digiere el material orgánico presente en la muestra. Estos nutrientes son esencialmente: nitrógeno, fósforo, hierro, calcio, magnesio, etc., y se estabiliza el pH del agua de dilución con un buffer adecuado. Normalmente las aguas residuales ya tienen éstos nutrientes, pero se agregan para el caso de aguas de desecho que no los contengan. No es posible poner grandes cantidades de muestra ya que además del material orgánico digerible, se requiere oxígeno para el metabolismo de las bacterias y la solubilidad del oxígeno en el agua es bastante limitada (aproximadamente 8 mg/litro a 25°C y 1 atm. de presión). Si el material orgánico está en exceso estequiométrico de la cantidad de oxígeno requerido, como lo indica la ecuación (1) al término de la prueba no hay oxígeno disuelto que se pueda medir y no es posible evaluar la Demanda de Oxígeno.

La ecuación (2) es la deseable, ya que de esta manera si se puede determinar la cantidad de oxígeno consumido, restando el oxígeno disuelto al final de la prueba con el oxígeno inicialmente presente.



La razón técnica de hacer las lecturas de DBO a los cinco días de incubación es porque después de este periodo frecuentemente ocurre la nitrificación.

La nitrificación o conversión del nitrógeno orgánico y amoniacal a nitritos y nitratos requiere de oxígeno, por lo que la disminución de oxígeno disuelto o incremento de DBO, ya no se debe a la oxidación del carbono orgánico que es lo que se desea medir en este tipo de prueba.

La razón histórica de hacer la lectura a los cinco días y a una temperatura de 20°C, se debe a que como esta técnica tiene su origen en Inglaterra, la British Royal Commission of Sewage Disposal, determinó que la temperatura promedio de los ríos de este país es de 18.3°C y que el tiempo máximo que duran estas aguas en su trayecto de los ríos hacia el mar, es de cinco días.

Como ésta prueba de DBO pretende reproducir estos hechos, se seleccionaron los parámetros de tiempo y temperatura ya mencionados, y que por causas circunstanciales coinciden más o menos con las razones técnicas de efectuar las lecturas en esas condiciones (Cristina Nerín de la Puerta, Cristina. 2010).

Demanda Química de Oxígeno (DQO).

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) se define como cualquier sustancia tanto orgánica como inorgánica susceptible de ser oxidada, mediante un oxidante fuerte. La cantidad de oxidante consumida se expresa en términos de su equivalencia en oxígeno. DQO se expresa en mg/l O₂.

Debido a sus propiedades químicas únicas, el ión dicromato (Cr₂O₇²⁻) es el oxidante especificado en la mayoría de los casos. En estas pruebas el Cr₂O₇²⁻ se reduce a ión crómico (Cr³⁺).

Como se ha comentado, tanto los constituyentes orgánicos como inorgánicos de la muestra están sujetos a oxidación. Sin embargo, el componente orgánico predomina y es de mayor interés. El DQO es un test definido, tanto el tiempo de digestión como la fuerza del reactivo y la concentración DQO de la muestra afectan al grado de oxidación de la misma.

El método DQO se usa a menudo para medir los contaminantes en las aguas naturales y residuales y para evaluar la fuerza de desechos tales como aguas residuales municipales e industriales.

El método DQO se usa también en aplicaciones en centrales eléctricas, industria química, industria papelera, lavanderías, estudios medioambientales y educación general. En las plantas potabilizadoras de agua, los valores DQO deberán ser inferiores a 10 mg/l O₂ al final del ciclo de tratamiento.

En la primera Etapa se hicieron los ensayos en Laboratorio usando mini CBR con 0.5 litros de capacidad y los resultados nos permitieron diseñar un prototipo de CBR con una capacidad de 500 litros.

En la presente etapa se ha puesto en funcionamiento un CBR a escala Piloto, para biodegradar los aceites residuales de una empresa del parque industrial de Arequipa para demostrar, a través de la medida de Lípidos, DBO y DQO, la eficacia de las bacterias (*Planococcus sp.*) en la descontaminación de residuos aceitosos y de esta forma la industria aplique esta tecnología como un pretratamiento de sus residuos y evitar de esta disminuir el tipo de contaminantes en sus aguas residuales.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del Biorreactor CBR.

SISTEMA MECÁNICO, un tanque del CBR, que ha sido construido a base de fibra de vidrio industrial de alta densidad y resistencia recubierto con pintura anticorrosivo, el cual descansa sobre un armazón metálico (ángulos de dos caras y tubos redondos) diseñado para soportar pesos de volumen elevados, las dimensiones según el diseño planteado es de 120 cm largo x 90 cm ancho x 60 cm altura. Subdividido en tres compartimientos iguales es decir cada sub compartimiento tiene las siguientes dimensiones 40cm largo X 90cm de ancho X 60cm de alto. Sistema eléctrico, está conformado por un Motor trifásico de marca SIEMENS 4p 0.4 HP 1800RPM/con reductor incorporado el cual baja la velocidad hasta 50 RPM; un variador de velocidad de la marca SCHNEIDER ALTIVAR Y guardamotor de protección 6 AMP.

En la siguiente figura se presenta el BIOREACTOR BCR ya ensamblado en su totalidad, además se realizó pruebas de funcionamiento óptimo y ajustes en zonas donde era necesario.



Fig. 1. Biorreactor CBR, listo para su activación y funcionamiento.

ACTIVACION DEL BIOREACTOR

Para la activación del bioreactor, se preparó un medio de cultivo industrial formulado a partir de melaza en la dosis de 0.05g/l y fosfato di amónico en la dosis de 1g/l, todos estos ingredientes fueron mezclados con agua de clorada para luego hervirlos con el fin de esterilizar el medio de cultivo.

Un día después de dicho proceso se procedió a agregar 1 litro y medio de cada cepa como inóculo de acuerdo al tratamiento (Tratamiento 1: consorcio *Pseudomonas fluorescens* y *Planococcus sp.* Cepa 8 y cepa 24. Tratamiento 2: *Planococcus sp* cepa 8). Agregados los inóculos, se dejó incubar el bioreactor por 10 días para permitir la formación de la biopelícula.

IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS DE LA BIOPELICULA

Durante esos 10 días de incubación del medio de cultivo, se hizo el monitoreo del crecimiento de la biopelícula, para lo cual se hizo un raspado del biodisco con ayuda de un hisopo estéril y se procedió a sembrar en medio Agar

Nutriente e incubarlos a 37°C, paralelo a esto, se volvió a realizar otro raspado del biodisco pero esta vez se colocó la muestra en una placa porta objetos con el fin de fijarla y colorearla con violeta de genciana y al proceder a observar a microscopio se observaron cocos y bacilos que corresponden a las especies *Planococcus sp* y *Pseudomonas fluorescens* respectivamente.

APLICACIÓN DEL SUSTRATO

Pasado ese tiempo de incubación, se procedió a retirar 30 litros de medio de cultivo de cada compartimento y cambiarlo por 30 litros de aceite de carro quemado para luego comenzar con las determinaciones de DBO, DQO y contenido de grasas. Dicho aceite fue obtenido de una empresa constructora de inmuebles y asfaltos donde el aceite quemado lo distribuyen a las empresas ladrilleras como combustible para el encendido de los hornos.

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE GRASAS Y SOLIDOS TOTALES

Para la determinación del contenido de grasas, se procedió a colocar 5g de muestra con 20ml de benceno en una pera de decantación, se mezcló vigorosamente, luego se extrajo el sobrenadante y se lo coloco en placas petri previamente pesadas dejándose evaporar el benceno al ambiente y quedando la grasa en la superficie de las placas. Por último, se volvió a pesar las placas petri y se obtuvo la cantidad de grasa por gramo de muestra bajo el método de diferencia de pesos. Dicho proceso se repitió por triplicado.

Para la determinación de sólidos totales, se extrajo el precipitado fruto de la decantación, se lo coloco en placas petri previamente pesadas, se dejó evaporar el benceno residual y se volvió a pesar las placas petri para obtener la cantidad de sólidos totales por gramo de muestra bajo el método de diferencia de pesos.

DEMANDA BIOLÓGICA DE OXÍGENO DE 5 DÍAS (DBO₅) y LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

Se utilizó la técnica 5210 B. (APHA *et al.*, 1992). Y se utilizó el Método de Reflujo Cerrado, método título métrico, técnica 5220 C (APHA *et al.*, 1992). Para DBO y DQO respectivamente.

ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC).

El análisis por HPLC se llevó a cabo con muestras iniciales, durante y al final del proceso de tratamiento. Se utilizó un Equipo HPLC Lachrom Elite L-2450 con una columna RP-18 octaducto, acoplado a un detector UVDAD y las medidas se hicieron a 205 nm de longitud de onda; La fase móvil estuvo compuesto por una mezcla con 85% de Octonitrilo, 10% de Metanol y 5% de solución acuosa que contiene 1% de Ac. Acético. La tasa de flujo fue de 1.5 ml/min y se utilizaron 3 ácidos grasos como estándares: Ac. Oleico, Ac. Linoleico y Ac. Linoleico.

RESULTADOS Y DISCUSION

Dentro de las tecnologías para el tratamiento de aguas residuales La EPA ha considerado a los CBR como una tecnología apropiada, ampliamente usada para Lixiviaciones, orgánicos solubles y para procesos de nitrificación (EPA 1995), sin embargo, por primera vez nosotros aplicamos esta tecnología para degradación de aceites y grasas, ya que su movimiento rotatorio permite la oxigenación del medio en ausencia de agentes surfactantes y bajas condiciones de agitación.

En nuestro CBR que se encuentra tres compartimentos se puede aplicar una fermentación en serie; sin embargo, esta vez lo utilizamos para un estudio comparativo de 2 tratamientos y 1 control.

El primer compartimento es el control en donde el líquido contaminado con aceite contiene además Azida de Sodio al 0.1%, los biodiscos que trabajan en este compartimento no presentan biopelículas de ningún tipo bacteriano.

El segundo compartimento presenta biodiscos con biopelículas formadas por un consorcio de bacterias (*Pseudomonas fluorescens* mas *Planococcus sp*) ambas se han reportado que degradan hidrocarburos (venila y Kannan 2011). En el Tercer y último compartimento tiene los discos con biopelículas formadas solo por *Planococcus sp*. La cepa nativa aislada del desierto de la Joya, Arequipa.

Que ensayos preliminares se ha demostrado que tiene la capacidad de degradar hidrocarburos policíclicos como el benceno, tolueno, xilano. Esta vez muestra una actividad degradativa de aceites, con una actividad, as efectiva que cuando se encuentra en consorcio con *Pseudomonas fluorescens*. Los dos últimos compartimentos presentan el agua con 20% de aceite residual de las industrias que servirán para probar el efecto degradativo de los *planococcus sp*.

Al inicio se puede observar que los discos se cubren de una capa negra conteniendo el aceite insoluble en el agua, pero a medida que pasan los días el aceite se va mezclando con el agua, la explicación a esto es debido a que estas bacterias, *Planococcus sp*, tienen la propiedad de emulsificar los aceites lo que facilitara su biodegradación; este cambio no sucede en el Control (primer compartimento), además en los tratamientos al 5 día el color negro del aceite se torna a marrón y hasta que al final solo queda un color marrón claro, casi tirando a beiz.

Esta actividad de cambio de color también fue observado cuando se hizo los ensayos en laboratorio incluso la viscosidad de la mezcla Agua-aceite disminuye. Estas observaciones son corroboradas y explicadas con los datos de DQO, DBO y Lípidos totales que fueron monitoreados durante el ensayo en la planta de la industria.

MEDIDA DE LÍPIDOS TOTALES

Una de las variables que se utiliza para evaluar la capacidad degradativa de aceites y grasas, es la medida de Lípidos Totales (LT), para ello usamos el método gravimétrico de extracción de aceites y grasas con Benceno. Se evaluó el contenido de lípidos totales al tiempo cero y a los 20 días de tratamiento.

La eficiencia de remoción de los aceites y las grasas es mostrada en la tabla 1, en esta tabla podemos ver que el tratamiento con *Planococcus sp*, es más eficiente logrando reducir hasta el 98 % de los aceites y grasas totales del agua a tratar.

Cuando esta bacteria se encuentra en consorcio con *Pseudomonas fluorescens*, su efectividad disminuye logrando una remoción de 93 %, esta eficiencia de remoción se encuentra por encima de lo reportado para la degradación de aceites lubricantes (Chaineau *et al.*, 2002). La significancia de degradación de aceites y grasas encontradas en nuestro sistema podría ser atribuidos al continuo proceso de oxigenación del CBR por su propiedad de discos rotatorios y por otro lado demuestra una vez más las propiedades biodegradativas de las cepas nativa de *Planococcus sp*.

Tabla 1. Contenido de Aceites y grasas (mg/L) de la mezcla aceite: agua residual

	Tiempo cero	Despues 20 días	Degradación (%)	P
Control	11,0366	14,3667	0	>0.05
Consortio	118,333	7,667	93	<0.05
Planococcus sp.	116,667	1,667	98	<0.05

LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

Se utilizó el Método de Reflujo Cerrado, método título métrico, técnica 5220 C (APHA *et al.*, 1992).

Tabla 2. Comparación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) evaluada durante 20 días

Evaluaciones	Control (mgO ₂ /L)	Consortio \bar{X} (mgO ₂ /L)	Planococcus sp \bar{X} (mgO ₂ /L)
1 días	32000 ± 8000	32000 ± 8000	34667 ±4619
2 días	34667± 9237	32000 ±13856	29333 ±4619
3 días	34667 ± 6110	29333 ± 4618	29333 ±4619
4 días	31000 ± 4358	26667 ±4618	26667 ±4619
5 días	29333 ± 6110	22000 ±3464	24000± 0
6 días		19000 ±4358	23000 ±1732
7 días		18333± 4932	21333 ±1528
8 días		15667 ±577	19333± 577
9 días		12500 ±500	16333 ±1528
10 días	26000 ± 1732	11667 ±1527	14000 ±2646
11 días		9813 ±4037	12333 ±1528
12 días		6667 ±1154	10333± 577
13 días		4667± 577	9333± 577
14 días		3333 ±577	9000 ±1000
15 días	31333 ± 3055	3000 ±1000	7000 ±1000
16 días		2167± 288	5333± 577
17 días		1667 ±577	500±0 0
18 días		1833 ±763	3333± 577
19 días		2433±360	3000± 0
20 días	36333 ± 4932	600 ±173	2667 ±577
21 días		300 ± 0	1500 ±500

La tabla 2 muestra los promedios de las medidas de DQO durante un monitoreo de 21 días. presentándose diferencias significativas a medida que pasan los días, se muestra además en estas evaluaciones menores promedios de DQO con el tratamiento y una disminución gradual en dichos promedios hasta la 21^o evaluación en la que se alcanzó 300±00 y 1500 ±500 (mgO₂/L). En conclusión podemos decir que Planococcus spreduce el DBO hasta 1500 en 21 días, una mayor reducción se observa en el consorcio.

LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO)

Los valores de DBO se determinaron utilizando el método de titulación alcalino-azida de Wrinkler de (Ademoroti, 1996, APHA 1996). Los valores promedio de DBO fueron medidos en forma diaria los primeros días y después cada 5 días hasta el 20avo día de tratamiento, en el tratamiento control se puede observar un valor promedio de 32,000 mgO₂/L manteniéndose sin variación significativa durante el monitoreo (resultados no mostrados en la Figura, pero se presentan en la tabla.

En cambio los valores de DBO de las aguas que contenían el aceite, se observa una disminución en una manera dependiente del tiempo de Tratamiento, los valores promedio iniciales (24480 y 25092 mgO₂/L) llegando hasta valores muy bajos (189 y 897 mgO₂/L) para los tratamientos con el consorcio y para el tratamiento con Planococcus sp. respectivamente.

Los altos valores de DBO en los tratamientos son indicativos de la presencia de contaminantes organicos (Kolawole *et al* 2011), todos estos valores exceden los valores máximos recomendados para la buena calidad de Agua pero a medida que son tratados los valores de DBO se acercan a los valores máximos recomendados por el ministerio del ambiente (MINAM 2011), en nuestro caso el alto valor inicial se debe a la presencia del alto contenido de Aceites y grasas y al ser disminuidos hasta cerca de los valores permisibles, al final puede diluirse 2 a 8 veces y luego este residuo, las empresas del parque industrial, pueden verter a las fuentes de agua, el río chili por ejemplo, sin producir efecto ecológico a nuestro ambiente.

Tabla 3. Valores Promedio de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) evaluada durante 20 días.

Evaluaciones	Control (mgO ₂ /L)	Consortio \bar{X} (mgO ₂ /L)	Planococcus sp \bar{X} (mgO ₂ /L)
1 días	30573,3333	24480	25092
2 días	26319	24345,3333	22317
3 días	36096	22340	22340
5 días	31313,5	17525,6667	19750,6667
10 días	36153	9270	9123
15 días	34020	2225,33333	4214,33333
20 días	31632	189	897

DETERMINACION DE ACIDOS GRASOS POR HPLC.

Con el fin de demostrar la formación de Acido Grasos y su posterior consumo por las biopelículas presentes en la superficie de los Discos del CBR, se tomaron muestras de tratamiento al inicio, durante y al final del tratamiento, los ácidos grasos presentes en las muestras fueron extraídos con Cloroformo y después de una clarificación, un volumen de 100 ul fue utilizado para su análisis mediante un detector UV-DAD por Cromatografía Liquida de Alta Performancia (HPLC),

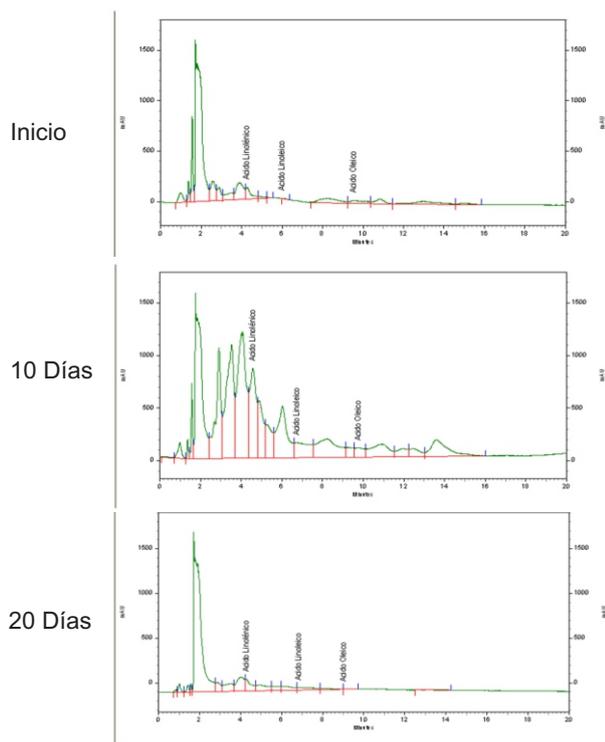


Fig. 2. Cromatograma de la muestra de aceite al inicio, 10 y 20 días del tratamiento. Los ácidos grasos de 5 gr de muestra de aceite fueron extraídos con 20 ml de Cloroforno, el extracto fue clarificado por filtración (watman 0.2 um) y 100 ul de filtrado fue analizado con Detector UV-DAD por HPLC (Lachrom Elite L-2450), por duplicado, en el cromatograma se muestran los picos de los estándares que serán usados como referencia. El cromatograma es representativo.

El Análisis de los ácidos grasos por HPLC se muestran en la figura 2. En ellas se puede observar lo siguiente: La figura 2 muestra un cromatograma de los Ac. Grasos presentes en la muestra al inicio del tratamiento, se puede observar pequeños picos que corresponden a ácidos grasos, EL primer pico, muy grande, que aparece cerca de 2 RT, corresponde al solvente utilizado para la extracción de Ac, Grasos de las muestras, Cloroforno. Los estándares utilizados Ac Oleico, Ac. Linoleico y Ac, Linolenico aparecen aproximadamente a los 8.5, 6.4 y 4.1 de RT respectivamente (Cromatograma no mostrado), y claramente se puede observar la ausencia de Ac, grasos libres, unos minúsculos picos aparecen con una concentración no significativa.

Se puede observar la aparición de Picos en el cromatograma, up stream de los estándares referenciales; lo que estaría indicando en este tiempo (5 días) de tratamiento hay la formación de Ac. Grasos libres con RT de 2.5 a 15, de igual forma se incrementa su concentración a mediat que aumenta el tiempo de tratamiento hasta los 10 días; el número de picos se mantiene en el cromatograma lo que estaría indicando que las bacterias están liberando enzimas capaces de degradar lípidos y que esto va acompañado de la liberación de Ac. Grasos, los cuales vienen a ser uno de los componentes estructurales de los lípidos.

A partir de los 15 días se observa una disminución de la altura de los picos, lo que indica que la tasa de liberación y metabolismo de ácidos grasos, se inclina al metabolismo,

el mecanismo de liberación empieza a disminuir. el consumo de los ácidos grasos por las bacterias, hacen que se forme como residuo CO₂ y H₂O Si bien la degradación del Hidrocarburo pocas veces es del 100% (Solano Seresa Et al 2000, Santina Santisi, et al. 2015) la formación de consorcio favorecería un metabolismo más completo de los Hidrocarburos (Varnam & Evans, 2000), es por eso que nosotros ensayamos un consorcio de Planococcus sp mas Pseudomona Fluorescens. Lo que evidencia una mayor degradación del aceite residual (Xenia ME, Refugio RV 2016). Al termino del tratamiento prácticamente los picos desaparecen, lo que indicaría el uso completo de los Ac. Grasos por las bacterias y también la degradación casi completa de los Aceites y grasas presentes en la muestra residual sometida al tratamiento. Nuestros resultados confirman la degradación de Aceites y grasas presentes en Aceites residuales industriales, mediado por bacterias presentes en las biopelículas del Contactor Biológico Rotatorio ,CBR, y a la vez el comportamiento de disminución en el tiempo de tratamiento es similar y están acorde a los parámetros de DBO, DQO y Grasas estudiadas.

REFERENCIAS

- [1] **Ademroti, C.M.A.** *Standard Methods for Water and Effluents Analysis*; Folidex Press Ltd.:
- [2] **Apha, Awwa Y Wef.** 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18TH Edition, American Public Health Association, Washington.
- [3] **APHA, AWWA, WWCf,** 1992.. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition. American Public Health Association. Washington DC.
- [4] **Bioblend (2008).** Biodegradable: What does that really mean?" On the kinetics of the autoxidation of fats: influence of pro-oxidants, antioxidants and synergists. European. J. Lipid Sci. Technol. 105(2): 83- 91.
- [5] **Carrillo, P. G.; Mardaraz, S. I.; Pitta-Alvarez; Giulietti, A. M.** (1996), Isolation and section of biosurfactant producing bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **12**, 82-84.
- [6] **Chaineau, C. H.; Setier, J. C.; Morillon, A., (2002).** Is bioremediation s solution for the treatment of oily waste. SPE 78548, Soc. Petrol Eng. Inc. 1-10 (**10pages**).
- [7] **Diaz E (2008).** Microbial Biodegradation: Genomics and Molecular Biology, 1st ed., Caister Academic Press. www.horizonpress.com/biod.
- [8] **Erhan SZ, Perez JM (2002).** Biobased Industrial Fluids and Lubricants. The American Oil Chemists' Society.
- [9] **Fuente: Decreto Supremo N° 003-2010-MINAM**
- [10] **Howell S, Weber A.** 1997 Biodeisel Use in Underground Metal and Non-Metal Mines, DieselNet Technical Report, May 1997. Ibadan, Nigeria, 1996; pp. 1-49.
- [11] **Jirasripongpun K. (2002)** The characterization of oil-degrading microorganisms from lubricating oil contaminated (scale) soil. En: Letters in Applied Microbiology (2002), Vol 35, p. 296–300
- [12] **Kolawole O, Ajayi K, Olayemi A, Okola A.** Assesment of wáter quality in Asa River (Nigeria) and its Indigenous Clarias gariepinuns Fish. Int. J. Environ. Res. Public Health 2011, 8. 4332-4352)
- [13] **Linda U. Obi, Harrison I. Atagana, Rasheed A. Adeleke** Isolation and characterization of crude oil sludge degrading bacteria Springerplus. 2016; 5(1):
- [14] **Saifudin N, Chua KH (2006).** Biodegradation of Lipid-rich Waste Water by Combination of Microwave Irradiation and Lipase Immobilized on Chitosan." *Biotechnol.* 5 (3): 315-323.
- [15] **Santina Santisi, Simone Cappello, Maurizio Catalfamo, Giuseppe Mancini, Mehdi Hassanshahian, Lucrezia Genovese, Laura Giuliano, Michail M. Yakimov** Biodegradation of crude oil by individual bacterial strains and a mixed bacterial consortium Braz J Microbiol. 2015 Jun; 46(2): 377–387

- [16] **Solano-Serena F., Marchal R., Cararégola S., Vasnier C., Lebeault J.L. & Vandecasteele J.P.** 2000. A Mycobacterium strain with extended capacities for degradation of gasoline hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6): 2392-2399.
- [17] **Varnam A. & Evans M.** 2000. *Environmental microbiology*. ASM Press, Washington. : 99-100.
- [18] **Wilfred F. M. Roling et al.** 2004. Bacterial Community Dynamics and Hydrocarbon Degradation during a Field-Scale Evaluation of Bioremediation on a Mudflat Beach Contaminated with Buried Oil. *Appl. Environ Microbiol.*, **70**:.2603–2613
- [19] **Xenia ME, Refugio RV** (2016) Microorganisms Metabolism during Bioremediation of Oil Contaminated Soils. *J Biorem Biodeg* 7: 340. doi: 10.4172/ 2155-6199.1000340.

Recibido el 12 de octubre del 2017 y aceptado para su publicación el 22 de noviembre del 2017